ZUR KENNTNIS VON CYCLISCHEN PEPTIDEN AUS GLYCIN, L-PHENYLALANIN UND L-p-NITROPHENYLALANIN

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Gisela Schreiber

aus Insterburg

1962

Druck:

Ernst - Reuter - Gesellschaft
der Förderer und Freunde der Freien Universität e.V.

Dissertations - Druckstelle

Berlin-Dahlem, Garystr. 45, Tel.: 76 52 61, App. 668

ZUR KENNTNIS VON CYCLISCHEN PEPTIDEN AUS GLYCIN, L-PHENYLALANIN UND L-p-NITROPHENYLALANIN

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Gisela Schreiber

aus Insterburg

1.Referent: Professor Dr.W.Broser

2.Referent: Professor Dr.G.Manecke

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Tag der mündlichen Prüfung: 12.März 1962

Tag der Promotion:

Inhaltsübersicht

		Seite
I.	EINLEITUNG	5
II.	AUFGABENSTELLUNG	9
III.	AUSFUEHRUNG	11
	a. Synthesewege	11
	1. Direkte Einführung der Nitrogruppe in Cyclo-(gly-L-phe-gly)$_2$	11
	2. Synthese aus den Komponenten Glycin und L-p-Nitrophenylalanin	12
	b. Infrarotspektren	14
	c. Absorption im UV-Gebiet	16
	d. Messung der Rotationsdispersion	19
	e. Anwendung der Drude'schen Gleichung	24
IV.	DISKUSSION DER ERGEBNISSE	26
V.	AUSBLICK	34
VI.	PRAEPARATIVER TEIL	35
VII.	MESSBEDINGUNGEN	42
VIII.	ZUSAMMENFASSUNG	43
IX.	LITERATURVERZEICHNIS	44

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548014_0064

I. Einleitung

Die Proteine und Peptide waren seit jeher auf Grund ihrer lebenswichtigen Funktionen in Tier- und Pflanzenwelt Gegenstand einer Vielzahl von Untersuchungen.

In neuerer Zeit fanden hierbei Peptide, die ringförmige Anordnungen der Aminosäuren enthalten, besondere Beachtung. Nach einem Vorschlag von R. SCHWYZER, B. ISELIN, W. RITTEL und P. SIEBER (1) bezeichnet man cyclische Peptide, deren Aminosäuren ausschließlich durch Peptidbindungen zum Ring verknüpft sind, als h o m o d e t , während bei Vorliegen von anderen Bindungsarten, wie Disulfid- und/oder Esterbrücken, man von h e t e r o d e t e n Cyclopeptiden spricht. Beiden Klassen gehören biologisch aktive, natürlich vorkommende cyclische Peptide an: z.B. stellen Tyrocidin A und B, sowie Gramicidin S homodete Cyclopeptide dar; Insulin, verschiedene Vasopressine, Oxytocin gehören dagegen der Klasse der heterodeten Cyclopeptide an. Phalloidin enthält sowohl einen homodeten, als auch einen heterodeten Ring, es stellt also einen Mischtyp dar.

Hand in Hand mit der Reindarstellung und Strukturaufklärung dieser Peptide begann man, die zu den cyclischen Peptiden führenden Darstellungsmethoden auszuarbeiten. Ihre Entwicklung weist eine augenfällige, wenn auch zeitlich stark gedrängte Analogie zur Entwicklung der allgemeinen Methoden der Peptidsynthese auf: so erhielten SCHRAMM und THUMM bei der unkontrollierten, basenkatalysierten Kondensation von freiem DL-Ala-gly-gly-OH [+)] ein komplexes Gemisch von linearen und cyclischen Peptiden (2); BROCKMANN, TUMMES und v. METZSCH (4)

[+)] Bezeichnung nach (3)

konnten bei einer analogen Kondensation das erste in kristalliner Form isolierte Cyclopeptid Cyclo-gly-DL-ala-DL-phe vom richtigen Molgewicht abtrennen. Die von BOISSONNAS und SCHUMANN (5) durch Einwirkung von Chlorameisensäureäthylester auf freies Tripeptid durchgeführte Darstellung von Cyclo-gly-leu-gly (für das keine Molgewichtsbestimmung angegeben wurde) wurde später von anderer Seite in Frage gestellt (1).

Das in der heutigen Peptidsynthese weitgehend angewandte Prinzip des sukzessiven Schutzes der Aminogruppe und Aktivierung der Carboxylgruppe wurde von den nachfolgenden Autoren in der überwiegenden Zahl der Fälle angewandt: WINITZ und FRUTON (6) hydrogenolysierten Carbobenzoxy-DL-phe-gly-gly-N_3 zum freien Azid und erhielten Cyclo-gly-DL-phe-gly. Aehnlich verfuhren SHEEHAN, GOODMAN und RICHARDSON (7) bei der Synthese des Cyclo-$(gly)_6$, das auch BAMFORD und Mitarbeiter (8) bei der Polymerisation von Gly-N-Carboxyanhydrid isolierten (vgl. auch 9). KENNER und TURNER (10) benutzten Thiophenylester zur Synthese des Cyclo-$(gly)_2$-leu-gly-leu, SCHWYZER, ISELIN, RITTEL und SIEBER (1) Cyanmethylester zur Herstellung von Cyclo-$(gly)_4$ und $_6$.

Diese Arbeiten erreichten einen vorläufigen Höhepunkt mit der Synthese des Gramicidin S (11) sowie seines Lysin-Analogen (12) durch R. SCHWYZER und P. SIEBER. Es gelang R. SCHWYZER und B. GORUP (13) auch das Cyclo-$(gly\text{-}leu\text{-}gly)_2$, dessen Darstellung HEYNS, WALTER und F. MUELLER vergeblich nach der Azidmethode versucht hatten (14), zu synthetisieren.

Durch die Verwendung aktivierter Ester oder auch freier Peptide in Verbindung mit Tetraäthylpyrophosphit oder N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid konnten in der nachfolgenden Zeit eine größere Zahl von cyclischen Peptiden erhalten werden: Cyclo-$(gly\text{-DL-}val\text{-}gly)_2$ von WIELAND und OHLY (15) sowie von ROTHE und Mitarb. (21,22), Cyclo-$(gly\text{-DL-}val\text{-DL-}ala)_2$ von WIELAND

und HEINKE (16), Cyclo-(glu-DL-phe-gly)$_2$ von SCHWYZER, SIEBER und GORUP (17), Cyclo-(gly-DL-phe-gly)$_2$ von SCHWYZER und SIEBER (18), Cyclo-(gly-L-phe-gly)$_2$, Cyclo-(gly-L-tyr-gly)$_2$, Cyclo-(gly-L-glu-γ-methylester-gly)$_2$ von W. LAUTSCH, SHINGTE, RAUHUT und HEINICKE (19), Cyclo-(gly-DL-ala-gly)$_2$ von ROTHE und Mitarb. (20), Cyclo-(gly-phe-gly)$_2$ L-L,D-D,D-L sowie Cyclo-gly-D-phe-gly-D-phe-gly$_2$ von SHINGTE (23), Cyclo-(gly-L-glu-gly)$_2$ sowie den zugehörigen $\gamma\gamma'$-Dimethyl- und Dibenzylester, Cyclo-(L-glu-L-tyr-gly)$_2$-γ,γ'-dimethylester und Cyclo-(gly-L-tyr-L-glu)$_2$-γ,γ'-dibenzylester von HEINICKE (24), Cyclo-gly-L-tyr$_2$-gly$_3$, Cyclo-gly-L-tyr-gly-L-tyr-gly$_2$ und Cyclo-gly-L-tyr-gly$_2$-S-benzyl-L-cysteinyl-gly von RAUHUT (25) und schließlich Cyclo-gly-pro-gly von GROUP und SCHWYZER (26).

Erwähnenswert ist hier ferner die von SHEEHAN und HENERY-LOGAN (27) durchgeführte Darstellung eines cyclischen Monomeren mit 4-gliedrigem Ring, nämlich der Ringschluß von Penicilloinsäure zu Penicillin.

Desgleichen sind Synthesen von cyclischen Peptiden mit ω-Aminosäuren durchgeführt worden. Insbesondere wurden cyclische Oligomere der ε-Aminocapronsäure untersucht, nachdem deren Vorkommen in Caprolactampolymerisaten von SCHLACK, HERMANS, ZAHN, BROWN, YOULE und HILL (28) erkannt worden war. ZAHN und REXROTH (29,30,33), ROTHE (31,21) und KUNITZ (32) bzw. BRUENIG (20) synthetisierten die Oligomeren $[-NH-(CH_2)_5-CO-]_n$ mit n=2 bis 7. Ein cyclisches Dimeres der Aminovaleryl- und der ω-Aminoönanthsäure, sowie das cyclische Di-, Tri- und Tetramere des ß-Alanins wurden von ROTHE (21) hergestellt. LEHMANN (35) synthetisierte schließlich ein Cyclodipeptid des α,α'-p-Xylylendiglycins.

Im Hinblick auf die Aufklärung der Synthesemöglichkeiten von cyclischen Peptiden und die Erforschung ihrer Eigenschaften in Abhängigkeit von der Konstitution sind die vorstehenden

Untersuchungen infolge der unmittelbaren Anwendung auf die Synthesen von Peptidhormonen (vgl. z.B. 10, 11) und ihrer Analoga von großem Interesse.

Von den bisher hergestellten cyclischen Peptiden beansprucht jedoch eine Gruppe von Hexapeptiden besondere Beachtung, nämlich die von LAUTSCH und Mitarb. (19,23-25) hergestellten Cyclopeptide, in denen zwei identische, optisch aktive Aminosäurereste durch je zwei Glycylglycyl-Reste zum Hexapeptid verbunden sind. Alle diese Substanzen zeigen im Bereich von 500 - 630 mμ in dichloressigsaurer Lösung die spezifische Drehung Null. Da sie sich aus der Dichloressigsäure-Lösung unverändert wiedergewinnen lassen, kann keine chemische Veränderung des Moleküls (wie z.B. Racemisierung) eingetreten sein.

II. Aufgabenstellung

Da der Betrag der spezifischen Drehung optisch aktiver Verbindungen bei genügender Annäherung der Wellenlänge des zur Messung benutzten linear polarisierten Lichtes an die für die Drehung maßgeblichen anisotropen Absorptionsbanden sich verändert (allermeistens nimmt er zu, vgl. 36), kann die Untersuchung und Sicherung des vorstehend erwähnten Befundes

a) durch Ausdehnung des Meßbereiches in das UV-Gebiet,

b) durch bathochrome Verschiebung des Absorptionsmaximums der untersuchten Verbindung infolge Einführung von geeigneten Substituenten

erfolgen.

Neben der Verfolgung der spezifischen Drehung des Cyclo-(gly-L-phe-gly)$_2$ nach kürzeren Wellenlängen soll daher in der vorliegenden Arbeit ein cyclisches Peptid des gleichen Typus, dessen Phenylkerne in p-Stellung durch Nitrogruppen substituiert sind, synthetisiert und seine spezifische Drehung untersucht werden. Um sicherzustellen, daß die Nitrogruppe trotz ihrer Entfernung vom asymmetrischen C-Atom einen wesentlichen Beitrag zur Drehung liefert ("Entfernungssatz", vgl. 36),soll weiterhin ein cyclisches Peptid der gleichen Art mit nur einem Nitrophenylkern, also das Cyclo-gly-L-phe-gly$_2$-L-nitrophe-gly hergestellt und auf seine Drehung untersucht werden.

In seltenen Fällen können sich die Drehbeiträge verschiedener Absorptionsbanden desselben Moleküls infolge ihres unterschiedlichen Vorzeichens zu einer Gesamtdrehung Null kompensieren. Bei Wechsel des Lösungsmittels tritt dann aber infolge des unterschiedlichen Einflusses des Lösungsmittels auf die einzelnen Absorptionsbanden eine beobachtbare Drehung auf.

Es soll daher versucht werden, einen Zusammenhang zwischen spezifischer Drehung und Art des Lösungsmittels bei den erwähnten Cyclopeptiden aufzufinden, insbesondere soll festgestellt werden, ob auch in anderen Lösungsmitteln als Dichloressigsäure eine spezifische Drehung Null beobachtet werden kann.

III. Ausführung

a. Synthesewege

Zur Darstellung von Cyclo-(gly-L-nitrophe-gly)$_2$ sowie Cyclo-gly-L-nitrophe-gly$_2$-L-phe-gly (im folgenden kurz als Bis-nitro-Verbindung bzw. Mono-nitro-Verbindung bezeichnet) sind zwei verschiedene Methoden in Erwägung zu ziehen:

1. direkte Einführung der Nitrogruppe in das Cyclo-(gly-L-phe-gly)$_2$,
2. Synthese aus den Komponenten Glycin und 1-Nitrophenylalanin.

1. Bei der hier notwendigen Einwirkung von zwei Molen nitrierendem Reagenz auf 1 Mol cyclisches Peptid besteht infolge der Mehrzahl von reaktiven Stellen in der Cyclopeptid-Molekel, nämlich 2 para- und 4 ortho-Positionen die Möglichkeit, daß

a) je ein Molekül Reagenz mit je einem Phenylkern reagiert (wobei die gewünschte Bis-nitro-Verbindung entstünde)

oder daß

b) ein bereits umgesetzter Phenylkern ein zweites oder gar ein drittes und viertes Mal reagiert. Zwangsläufig bliebe der zweite Phenylkern des betrachteten oder eines anderen Peptidmoleküls unsubstituiert. Es entstünde also ein Isomerengemisch zur gewünschten Verbindung, das allerdings im Durchschnitt eine Nitrogruppe pro Phenylkern enthielte.

Trotz dieser grundsätzlichen Bedenken gegen diesen Weg wurde nach den Angaben von SHINGTE (23) das Cyclo-(gly-L-phe-gly)$_2$ hergestellt und versucht, es mit nichtsauren Nitrierungsmitteln wie Tetranitromethan/Pyridin (37) bzw. nach Merkurierung mit Hg-(II)-Acetat durch Umsatz der Hg-Verbindung mit gasför-

migem NO_2 in die Bis-nitro-Verbindung zu überführen. Die Reaktionsansätze wurden total-hydrolysiert und die Hydrolyseprodukte chromatographisch getrennt. Ein Auftreten von Nitro- oder Dinitrophenylalanin konnte nicht nachgewiesen werden.

2. Ueber die Verwendung von unnatürlichen Aminosäuren wie L-Nitrophenylalanin zur Synthese von unnatürlichen Peptiden sind in der Literatur bisher keine Angaben gemacht worden, lediglich in der Untersuchung von Stoffwechselvorgängen von Mikroorganismen sind substituierte Phenylalanine öfters verwandt worden. Die vor kurzem veröffentlichte Synthese von L-p-Bromphenylalanin durch SCHWYZER und SURBECK-WEGMANN (38) deutet allerdings auf eine beginnende Aktivität auf diesem Gebiet hin.

Es erwies sich als möglich, die aus der Peptidchemie bekannten synthetischen Methoden auf die Darstellung von L-Nitrophenylalaninpeptiden anzuwenden. Als vorteilhaft erschien hierbei die Verwendung der reaktionsfähigen p-Nitrophenylester: Carbobenzoxyglycin (im folgenden kurz als Cbo-glycin bezeichnet) wurde mit Hilfe von N,N'-Dicyclohexyl-carbodiimid (im folgenden als DCD abgekürzt) in den p-Nitrophenylester überführt, der in der gleichen Reaktionsmischung mit dem Natriumsalz von L-p-Nitrophenylalanin zum Cbo-gly-L-nitrophe-OH umgesetzt wurde.

Die nachfolgende Kondensation dieses Dipeptides mit freiem Glycinester unter Verwendung von DCD verläuft nach ANDERSON und CALLAHAN (39) beim entsprechenden Phenylalanin-Analogen mit 6-12 %iger Racemisierung. Zur Kontrolle der optischen Reinheit des erhaltenen Tripeptides wurde deswegen der Cbo-gly-L-nitrophe-cyanmethylester hergestellt und mit Glyäthylester zum entsprechenden Tripeptid umgesetzt, dessen Schmelzpunkt und spezifische Drehung mit dem nach der DCD-Methode gewonnenen Tripeptid übereinstimmten. Bei der Ver-

seifung dieses Tripeptides färbte sich die Lösung beim Alkalizusatz tief rot. Die daran erkennbare vermutliche Aenderung des Zustandes des p-Nitrophenylkernes macht sich in einer Erschwerung der Verseifung bemerkbar: während SHINGTE (23) den Cbo-gly-L-phe-gly-äthylester mit 0,5 n NaOH in Aceton in 60 %iger Ausbeute verseifte, ergab das nitrierte Peptid unter den gleichen Bedingungen nur ca. 20 % verseiftes Tripeptid, in Aethanol mit 0,5 und 1 n NaOH ca. 40 %. In Methanol konnte dagegen mit 1 n NaOH eine Ausbeute von 75 - 80 % erzielt werden. Das Ende der Verseifung ist an der verblassenden Rotfärbung gut erkennbar. Die für eine Verseifungsreaktion verhältnismäßig hohe Ausbeute läßt auf eine Zurückdrängung der Nebenreaktionen (wie Hydantoinbildung) durch die Nitrogruppe schließen.

Angesichts der auch in letzter Zeit wieder berichteten Bildung von Cyclotripeptiden (26) und der bei Verwendung von Tripeptiden bei der Cyclisierung anfallenden Nebenprodukte wurde das obige Tripeptid nach Aktivierung der COOH-Gruppe als Nitrophenylester nach BOISSONNAS (40) mit Gly-L-phe-gly-nitrophenylester · HBr (23) zum aktivierten Mono-nitro-hexapeptidester, bzw. mit Gly-L-nitro-phe-gly-nitrophenylester· HBr (aus dem Tripeptidester mittels HBr/Eisessig) zum aktivierten Bis-nitro-hexapeptidester umgesetzt. Nach Entfernung der Cbo-Schutzgruppe mit HBr in Eisessig wurden diese aktivierten Hexapeptidester in Dimethylformamid gelöst und unter Beachtung des RUGGLI-ZIEGLER'schen Verdünnungsprinzipes (41) in einem Gemisch von Dimethylformamid und Pyridin cyclisiert. Die Reaktionsprodukte wurden mit Essigester von enthaltenen Linearpeptiden, mit Aether vom entstandenen p-Nitrophenol befreit und aus Methanol bzw. Eisessig bis zum Ausbleiben einer Ninhydrinreaktion umkristallisiert. Die Molgewichtsbestimmung in Trifluoressigsäure nach BARGER-RAST (42) ergab ein Molgewicht von 550-600 bzw. 600-650 (Theorie: 585 bzw. 630).

b. Infrarotspektren

Die IR-Spektren der Mononitro- und der Bis-nitro-Verbindung sind in Abb. 1 auf S. 15 wiedergegeben, die folgende Tabelle auf dieser Seite verzeichnet die aufgefundenen Banden mit den nach L.J. BELLAMY (43) und A. WEISSBERGER (44) getroffenen Zuordnungen.

Bandentabelle (cm^{-1})

Mononitro-		Bis-nitro-Verb.		Zuordnung
3242	ss	3306	ss	ν-NH ass.trans
		3268+	s	
3000	m	3029	w	ν-CH aromat.
2880	m	2905	w	ν-CH_2-
		2825	sw	
1672+		1695+	s	
1647	ss	1653	ss	Amidbande I
1596	m	1600	m	ν-C=C arom.
1553+	m	1558+	ms	Nitrogruppe
1538	s	1546	s	
1515	ss	1515	ss	
1493+	s	1493+	s	Amidbande II
1468+	m	1475+	m	δ-CH_2-
		1443+	m	
		1414	m	
1342	s	1348	s	ν-Nitro
1238	m	1282	m	
		1242	m	
1176	w	1182	w	1.4-substituiertes Benzol
1108	w	1111	m	
1026-2	w	1015		
858	w	859	m	γ-Schwing.d.1.4-Substitution
		810	sw	
743-37	m	745	m	Nitrogruppe
695	m	700-690	w	

+ bedeutet Schulter, s = stark, m = mittel, w = schwach

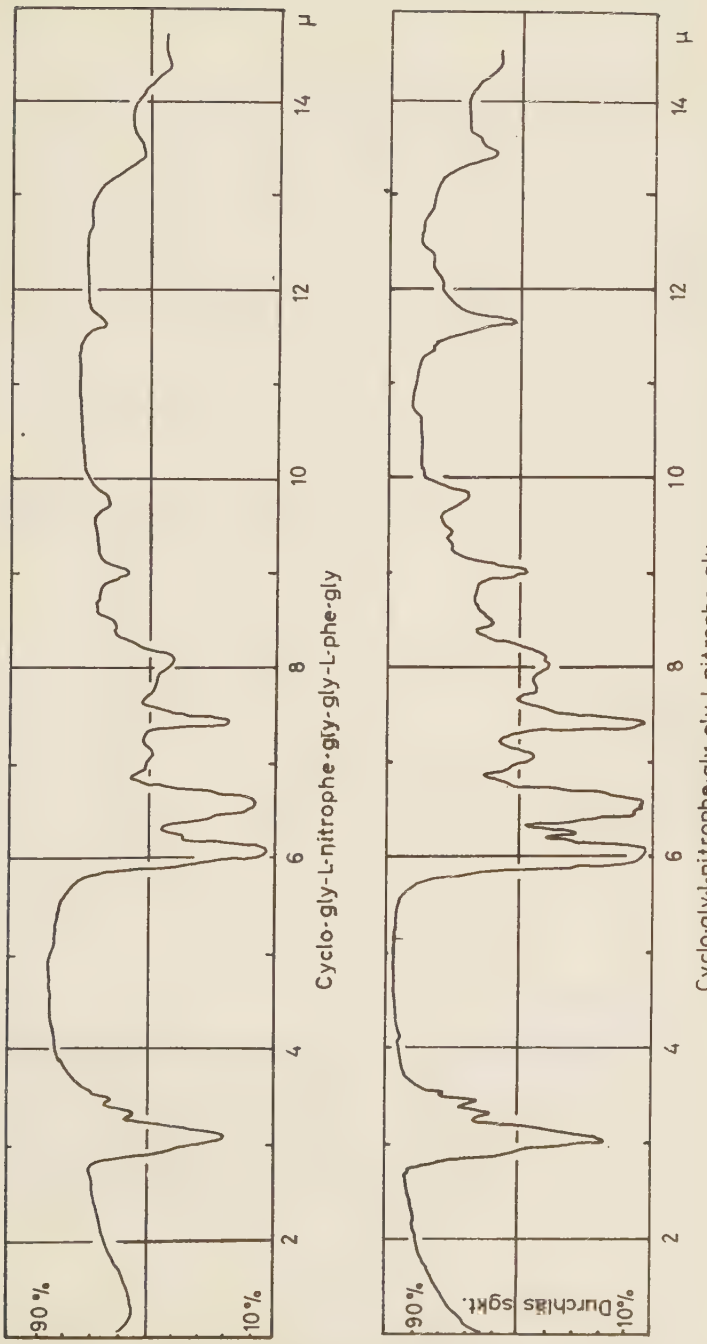

Abb.1 Infrarotspektren

Die erhaltenen Banden entsprechen den bei Proteinen, Polypeptiden und anderen Cyclopeptiden bekannten Banden; hinzu kommen die Banden der Nitrogruppe, die sich teils der Amidbande I (CO-Absorption), teils der für monosubstituierte Benzole charakteristischen γ-CH-Schwingung von 5 benachbarten H-Atomen überlagern. Die Amidbande liegt längerwelliger als beim Cyclotetra- und hexaglycyl (1). Die Höhe der Banden bei 858-9, 1108-11 und 1342-8 cm^{-1} verdoppelt sich mit zunehmender p-Substitution der Phenylkerne (Mono $\longrightarrow$ Bis-nitro-Verb.). Die in der folgenden Tabelle wiedergegebenen Banden finden sich in ähnlicher Lage in allen bisher veröffentlichten IR-Spektren cyclischer Peptide.

CYCLOPEPTID	Lage der Banden in cm^{-1}		
$(Gly\text{-}phe\text{-}gly)_2$	1245	1333	1026
$(Gly\text{-}tyr\text{-}gly)_2$	1230	1330	1027
$Gly_3\text{-}tyr\text{-}gly\text{-}tyr$	1230	1340	1030
$Gly_4\text{-}tyr_2$	1236	1342	~1020
$Gly_2\text{-}tyr\text{-}gly_2\text{-}S\text{-}Bz\text{-}cys$	1241	1311	1028
$(Gly\text{-}glu\text{-}gly)_2$	1241	1333	1028
$(Gly\text{-}glu\text{-}gly)_2\text{-}\gamma,\gamma'\text{-}(CH_3)_2$	1260	1340	1026
$(Gly\text{-}glu\text{-}gly)_2\text{-}\gamma,\gamma'\text{-}(benzyl)_2$	1250	1325	1026
$(Glu\text{-}tyr\text{-}gly)_2\text{-}\gamma,\gamma'\text{-}(CH_3)_2$	1235	1342	1020
$(Gly\text{-}nitrophe\text{-}gly)_2$	1242	verdeckt	1015
$Gly_2\text{-}phe\text{-}gly_2\text{-}nitrophe$	1238	verdeckt	1026

c. Absorption im UV-Gebiet

Die in Dimethylformamid, Methanol und wäßrigem Methanol aufgenommenen UV-Absorptionsspektren zeigen Abb. 2 und 3 auf Seite 17 und 18. Beide Verbindungen besitzen eine wesentlich größere Extinktion als das Cyclo-$(gly\text{-}phe\text{-}gly)_2$, die beabsichtigte bathochrome Verschiebung des Absorptionsmaximums wird beobachtet. Auffallend ist die mehr als 3fache Extink-

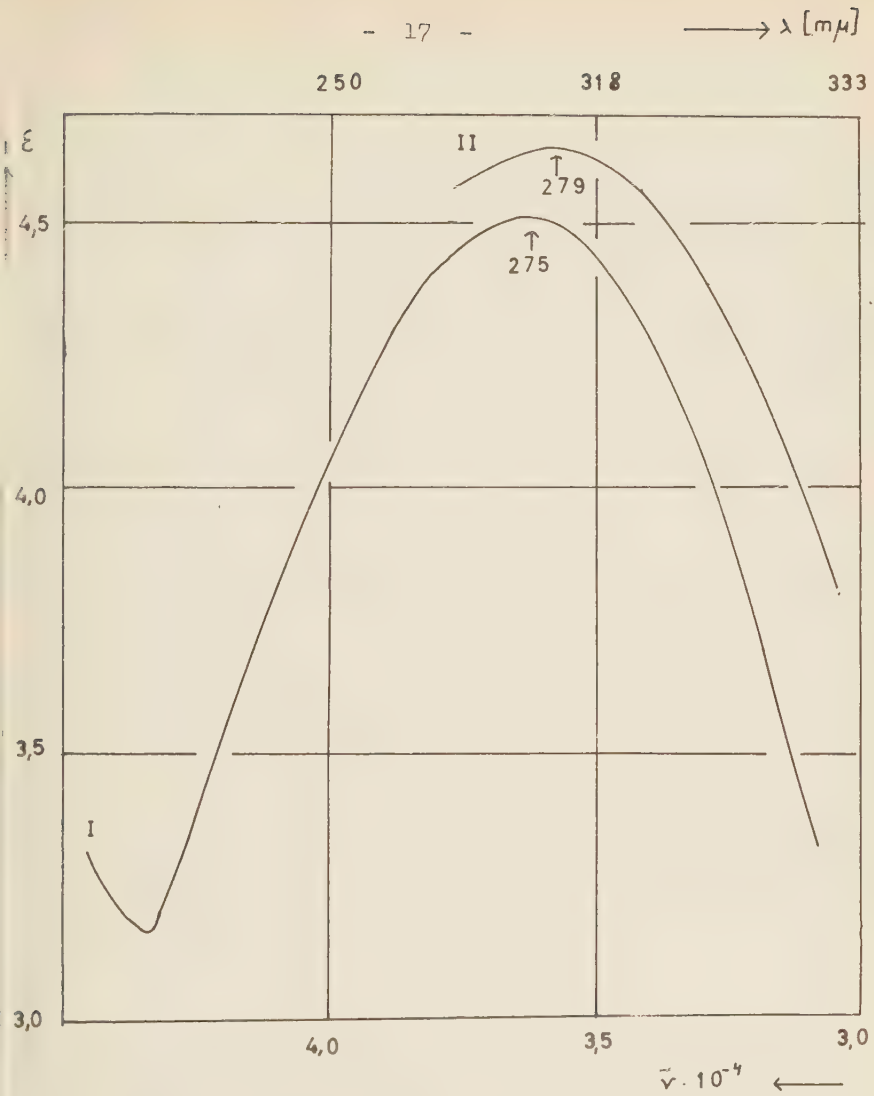

Abb. 2 Absorptionsspektrum des Cyclo-(gly-L-nitro-phe-gly)$_2$ in

I Methanol + Wasser (4:1) c = 10^{-5} Mol · l^{-1}

II Dimethylformamid c = 10^{-5} Mol · l^{-1}

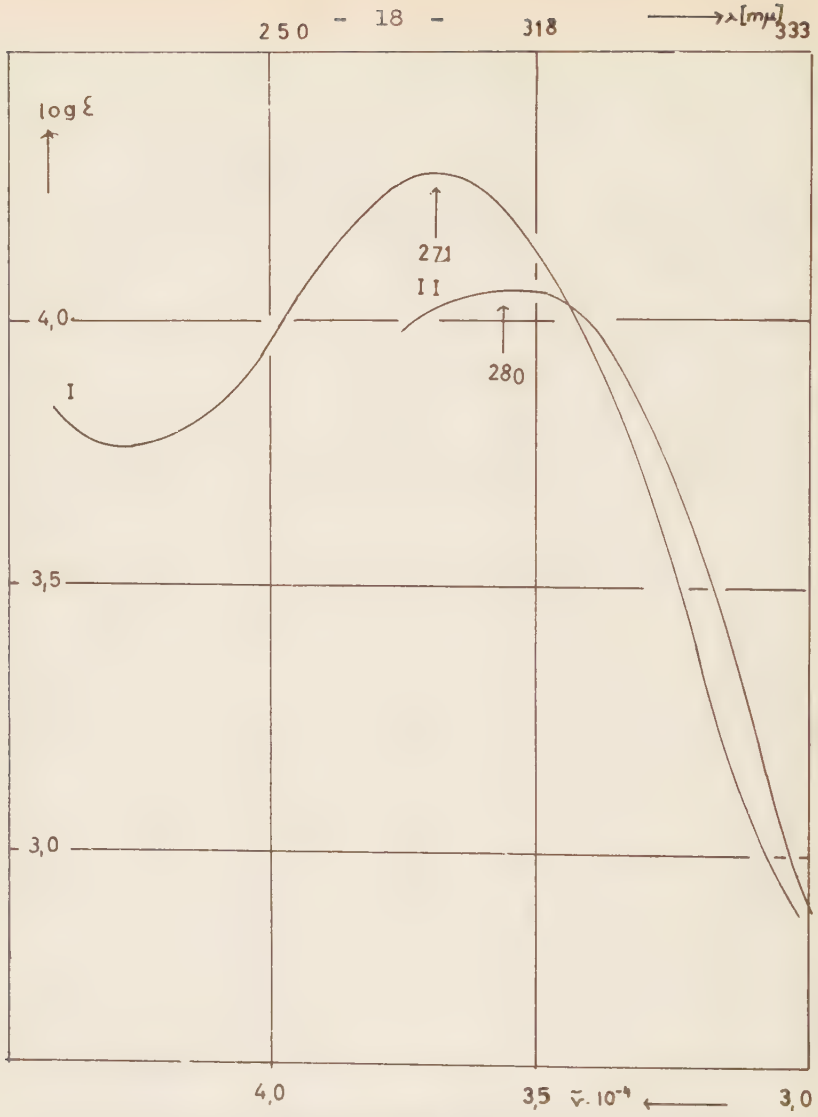

Abb. 3 Absorptionsspektrum des Cyclo-(gly-L-nitro-phe-gly-gly-L-phe-gly) in

I Methanol $c = 5 \cdot 10^{-5}$ Mol · l^{-1}
II Dimethylformamid $c = 5 \cdot 10^{-5}$ Mol · l^{-1}

tion der Bis-nitro-Verbindung gegenüber der Mono-nitro-Verbindung, sowie eine gleichzeitige kleine bathochrome Verschiebung. Ob diese Erscheinungen auf eine Wechselwirkung der beiden Nitrogruppen durch den Raum (45, S. 322) oder eine Beeinflussung unter Zwischenschaltung des Peptidringes zurückzuführen sind, kann nicht entschieden werden: am Kalottenmodell nach STUART-BRIEGLEB ist in der offenkettigen Form des Cyclopeptides ohne innermolekulare H-Brücken eine weitgehende Annäherung der beiden Nitrogruppen möglich; in der starreren Form mit vollständiger innermolekularer Absättigung der H-Brücken (siehe Abb. 7 auf S.29) können sich die beiden Nitrogruppen nur noch auf einen Abstand von ca. 3 Å nähern.

Eine weitere Deutungsmöglichkeit für diese Unterschiede der UV-Spektren wäre eine Beteiligung der Nitrogruppen an H-Brücken, die im Falle des Dimethylformamids innermolekular, in Methanol dagegen zwischenmolekular erfolgen könnte und am Kalottenmodell realisierbar ist. Wie H. LIPPERT (46) zeigte, werden dadurch die Energieinhalte des Grund- und des angeregten Zustandes genügend verändert, um eine Verschiebung des Absorptionsmaximums um die beobachteten Beträge zu erklären. Die Tatsache, daß beide Peptide in Dimethylformamid längerwellig als in Methanol absorbieren, würde dann nach PIMENTEL und MC CLELLAN (47) eine Zuordnung des Absorptionsmaximums zu einem $n \longrightarrow \pi^*$-Uebergang bedeuten.

d. Messung der Rotationsdispersion

Die Rotationsdispersion des nach den Angaben von SHINGTE (23) hergestellten Cyclo-(gly-L-phe-gly)$_2$ wurde zunächst in Dichloressigsäure (im folgenden als DCE abgekürzt) unter Ausdehnung des Meßbereiches bis 365 mμ verfolgt, wobei die von SHINGTE beobachtete optische Inaktivität in diesem Lösungsmittel bis 365 mμ bestätigt werden konnte (vgl. Abb. 4 auf

S.22). In Dimethylformamid wurde dagegen die von SHINGTE erst nach Fällen aus DCE und erneutem Lösen in Dimethylformamid konstant erhaltene spezifische Drehung von -60° ohne DCE-Behandlung sogleich erhalten. Die dieser spezifischen Drehung zuzuordnende Form ist also offensichtlich gegenüber der von SHINGTE zunächst erhaltenen Form mit $[\alpha]_D = -84°$ stabiler. Ferner unterstützt dieser Befund die von SHINGTE vertretene Ansicht, daß beim Lösen in DCE keine Racemisierung oder Dichloracetylierung eingetreten sein kann.

Die Bis-nitro-Verbindung zeigt in Dimethylformamid die erwartete Erhöhung der spezifischen Drehung gegenüber dem SHINGTE'schen Peptid. Daß diese Erhöhung einem spezifischen Einfluß der Nitrogruppen zuzuschreiben ist, zeigt die ebenfalls erhöhte Drehung der Mono-nitro-Verbindung. Nach der Vicinalregel (36, S. 401) muß der Phenylkern demnach einen wesentlichen Beitrag zur Gesamtdrehung liefern, wie ja auch aus dem Ansteigen der spezifischen Drehung in der Reihe

$$\text{Cyclo-(gly-glu-gly)}_2 \longrightarrow \text{(Gly-phe-gly)}_2 \longrightarrow \text{(Gly-tyr-gly)}_2$$
$$-16° \gg -62° > -70° >$$
$$\longrightarrow \text{(Gly-nitrophe-gly)}_2 \quad \text{mit } -105°$$

deutlich erkennbar ist.

In DCE zeigen die Mono- und die Bis-nitro-Verbindung eine gleichsinnige und etwa gleichgroße Erniedrigung der spezifischen Drehung. Da der Einfluß der DCE sowohl in einer Lösung der H-Brücken, als auch in einer Salzbildung an den Säureamidgruppen bestehen kann, wurde als nächstes der Einfluß von anderen H-brückenlösenden Agentien untersucht. In der Proteinchemie (Denaturieungsvorgänge) sind hierfür Harnstoff und Ammoniumsalze verwandt worden; HARBURY, LaNOUE, LOACH und AMICK (48) führen Phenol und Pyridin auf; MOFFITT, DOTY und

Spezifische Drehungen $[\alpha]^{25} = \frac{\alpha \cdot 100}{c \cdot d}$ Fehlergrenze $\pm 1°$

(Mittelwerte aus 7 Messungen)

I = Cyclo-(gly-L-phe-gly) II = Bis-nitro-Verb. III = Mono-nitro-Verb.

λ (mμ)	DMF = Dimethylformamid			Dichloressigsäure			F_3CCOOH	m-Kresol	DMF + Harnstoff	DCE
	I	II	III	I	II	III	II	I	I	II
365	-208	-	-	-1	-	-	-	-	-	-
405	-152	-270	-245	-1	-78	-47	-	-	-	-80
436	-121	-210	-192	0	-69,5	-38	-	-	-	-71,5
546	- 69	-118	-103	0	-40	-20	-	-	-	-40
521	-	-	-	-	-	-	-52,8	-87	-70	-
550	-	-	-	-	-	-	-45,5	-77	-62	-
578	- 61	-105	- 88	0	-36	-18	-	-	-	-36
589	-	-	-	-	-	-	-36	-71	-54	-
629	-	-	-	0	-	-	-33	-69,3	-49	-
$c(\frac{g}{100\,ml})$	0,33	0,124	0,485	0,489	0,475	0,53	0,55	0,52	1	0,475

$c_{Harnst.}$ = 3,06 bzw. 2,94

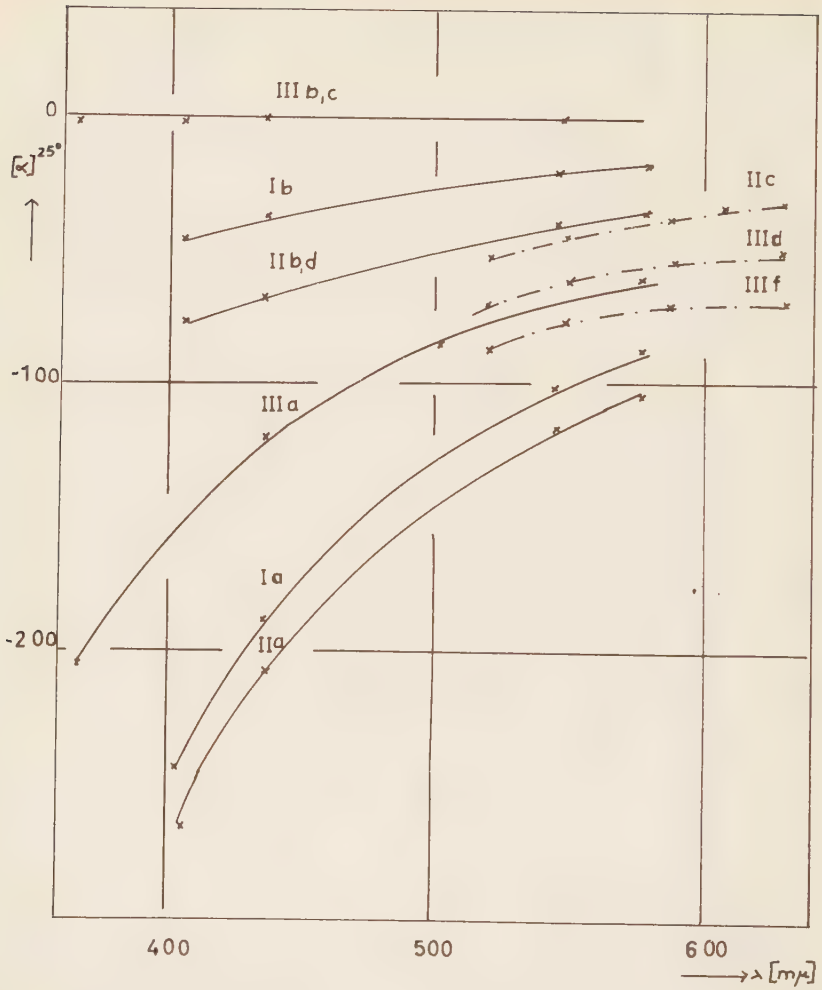

Abb. 4 Rotationsdispersion des

I Cyclo-(gly$_2$-L-phe-gly$_2$-L-nitrophe in
a Dimethylformamid
b Dichloressigsäure

II Cyclo-(gly-L-nitropne-gly)$_2$
a Dimethylformamid
b Dichloressigsäure
c Trifluoressigsäure
d b + Harnstoff

III Cyclo-(gly-L-phe-gly)$_2$ in
a Dimethylformamid
b Dichloressigsäure
c Trifluoressigsäure
d a + Harnstoff
f m-Kresol

YANG (49,50) verwandten noch m-Kresol und Hydrazin.

Wie aus Abb. 4 ersichtlich, verändert ein Zusatz von Harnstoff die spezifische Drehung des Cyclo(gly-L-phe-gly)$_2$ in Dimethylformamid, wenn überhaupt, nur geringfügig, Harnstoff in DCE (dessen Wirkung etwa der von Ammoniumsalzen entsprechen sollte) läßt ebenfalls die spezifische Drehung der Bis-nitro-Verbindung unverändert. Pyridin könnte auf Grund seiner basischen Eigenschaften die Peptidbindung verändern (vgl. die von KRATKY und SCHAUENSTEIN wahrscheinlich gemachte Enolatbildung 51,52) und wurde deshalb nicht verwandt. Hydrazin + Dimethylformamid 1:1 setzen die Drehung des Cyclo-(gly-L-phe-gly)$_2$ ungefähr auf die Hälfte herab, m-Kresol erhöht sie auf Grund seines besonderen, weiter unten erörterten Verhaltens.

Als weitere flüssige, organische Säure wurde Trifluoressigsäure als Medium zur Bestimmung der spezifischen Drehung benutzt. Die erhaltenen Werte stimmen praktisch mit denen der DCE-Lösung überein: optische Inaktivität beim Cyclo-(gly-L-phe-gly)$_2$, bei der Bis-nitro-Verbindung Herabsetzung der spezifischen Drehung um den gleichen Betrag wie in DCE.

Angesicht des unterschiedlichen Verhaltens des Cyclo-(gly-L-glu-gly)$_2$ und des Cyclo-(gly-L-tyr-gly)$_2$ gegen geringe Zusätze von DCE zur Dimethylformamidlösung beider Peptide (24,25) wurde die spezifische Drehung des Cyclo-(gly-L-phe-gly)$_2$ als Funktion der Konzentration an DCE bestimmt. Die Ergebnisse zeigt Abb. 5 auf S. 25. Eine Erniedrigung der spezifischen Drehung tritt also erst bei Vorliegen eines DCE-Ueberschusses über das in diesem Sinne als Base zu betrachtende Dimethylformamid auf.

e. Anwendung der DRUDE'schen Gleichung

Bei Poly-L-glutaminsäure-γ-benzylestern sowie verschiedenen Proteinen konnten DOTY und YANG (49) unter Verwendung einer von MOFFITT und YANG (50,53) entwickelten Gleichung für die Abhängigkeit der spezifischen Drehung von der Wellenlänge

$$[\alpha] = \frac{100}{M} \cdot \frac{n_\gamma^2 + 2}{3} \cdot \frac{\alpha_o \cdot \lambda_o^2}{\lambda^2 - \lambda_o^2}$$

(M = Molgewicht des Aminoacylrestes; n_γ = Brechungsindex bei der Frequenz γ ; α_o, λ_o = Konstanten)

bzw. nach der einfacheren DRUDE'schen Gleichung

$$[\alpha] = \frac{k}{\lambda^2 - \lambda_o^2}$$

zeigen, daß das Vorliegen von höheren Peptiden in einer zufallsgeknäuelten Form oder einer α-Helix mit Hilfe des Wertes der Konstanten obiger Gleichungen als Funktion von Lösungsmittel, Temperatur, p_H und anderen Faktoren bestimmt werden kann. Die Konstante λ_o hat hier bei Peptiden, die in der α-Helix vorliegen, einen Wert von 250-270 mμ, bei zufallsgeknäuelten Peptiden liegt ihr Wert bei 220 mμ.

Wendet man die DRUDE'sche Gleichung auf die Mono- und die Bis-nitro-Verbindung sowie das Cyclo-(gly-L-phe-gly)$_2$ an (vgl. Abb. 6 auf S. 27), so erhält man für die Dimethylformamid-Lösung einen λ_o-Wert von 246 mμ für das letztgenannte Peptid, für die Mono-nitro-Verbindung 260 mμ und für die Bis-nitro-Verbindung 241 mμ. Für die DCE-Lösung der Bis-nitro-Verbindung ergeben sich 40 mμ. HEINICKE (24) erhielt für das Cyclo-(gly-L-glu-gly)$_2$ 257 mμ, für den zugehörigen

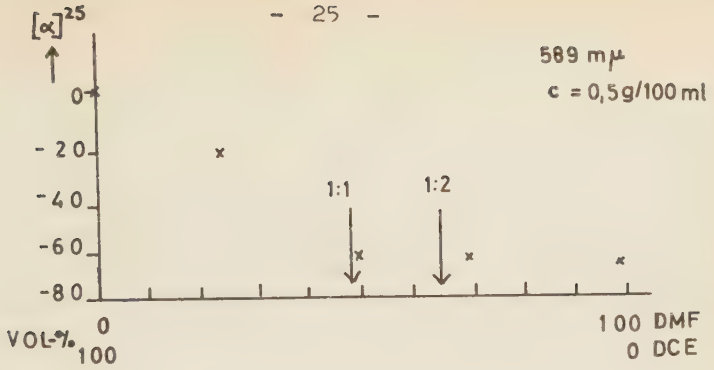

Abb. 5 Abhängigkeit der spezifischen Drehung vom Verhältnis DCE:Dimethylformamid beim Cyclo-(gly-L-phe-gly)$_2$. Die beiden Pfeile geben das Vorliegen eines Molverhältnisses 1:1 und 2:1 an.

Dibenzylester 255 mμ und für den Cyclo-(gly-L-tyr-glu)$_2$ γ,γ'-dimethylester 264 mμ.

m-Kresol nimmt hier eine Ausnahmestellung ein. Auch DOTY und YANG (49) fanden an ihren Poly-L-glu-benzylestern ein derartiges Verhalten und erklärten es mit einer Solvatation ihrer Benzylestergruppen. Wie am Kalottenmodell ersichtlich ist, kann eine derartige Solvatation der Phenylkerne auch im hier vorliegenden Falle stattfinden und zur Erklärung der Erhöhung der spezifischen Drehung sowie der Anomalität der Rotationsdispersion dienen.

IV. Diskussion der Ergebnisse

Die augenfälligste Eigenschaft der bisher untersuchten, in 1-4-Stellung mit Seitenketten versehenen cyclischen Hexapeptide mit L,L oder D,D-Konfiguration ist ihre optische Inaktivität in DCE.

Ein Vorliegen der spezifischen Drehung Null kann allgemein in den folgenden Fällen eintreten:

1. Das einzelne Molekül besitzt eine Symmetrieebene oder eine Drehspiegelachse bestimmter Zähligkeit.
2. Zwei Molekülformen entgegengesetzter Drehung liegen in einem derartigen Gleichgewichtsverhältnis vor, daß sich ihre spezifischen Drehungen zum Wert Null kompensieren. Erwähnenswert sind hier komplexe Strukturen wie die rechts- oder linksgewendelte α-Helix der Polypeptide, die infolge der ihr innewohnenden Asymmetrie einen eigenen Drehwert besitzen kann, auch wenn sie, wie im Falle des Polyglycins, nur aus optisch inaktiven Aminosäureresten besteht (vgl. FITTS und KIRKWOOD 54).
3. Mehrere Moleküle treten zu einem Verband zusammen, dessen Drehbeitrag sich mit denen seiner Komponenten zu Null ergänzt (vgl. auch vorstehenden Absatz).
4. Die Drehung liegt so nahe bei Null, daß sie lediglich apparativ nicht mehr erfaßt werden kann.
5. Eine Racemisierung ist eingetreten.
6. Vgl. LAUTSCH (55).

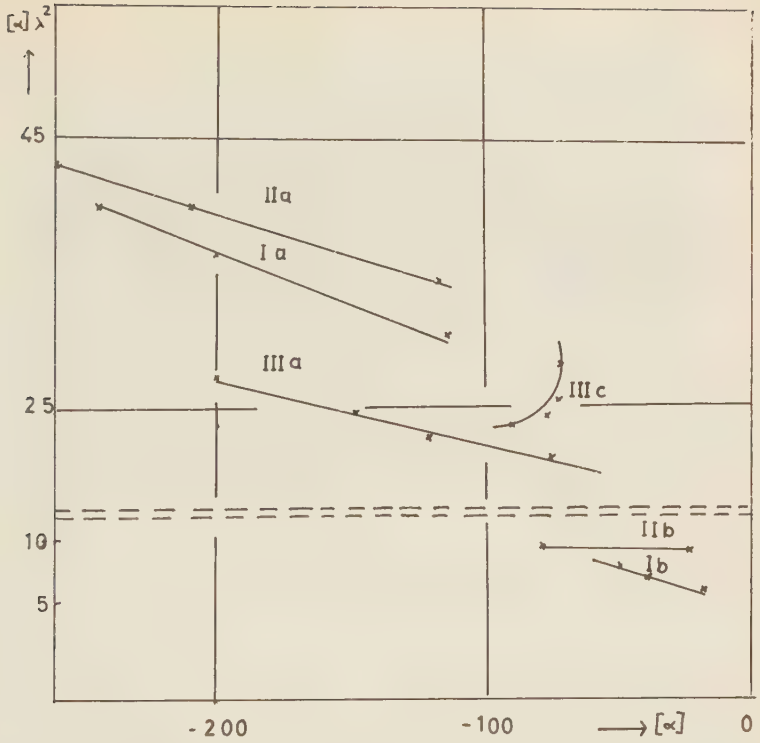

Abb. 6 Ermittlung der DRUDE'schen Rotationsdispersionskonstanten λ_o für

I Cyclo-gly-L-nitrophe-gly-gly-L-phe-gly

a in Dimethylformamid
b in Dichloressigsäure

II Cyclo-(gly-L-nitrophe-gly)$_2$

a in Dimethylformamid
b in Dichloressigsäure

III Cyclo-(gly-L-phe-gly)$_2$

a in Dimethylformamid
c in m-Kresol

Zu 1. Symmetrieelemente, die ein Vorliegen optischer Inaktivität begründen können, sind:

a. Spiegelebenen, b. zweizählige Drehspiegelachsen, die identisch mit dem Vorliegen eines Symmetriezentrums sind, c. 3- bzw. 6-zählige und d. 4-zählige Drehspiegelachsen.

Zur Feststellung der An- oder Abwesenheit obiger Symmetrieelemente wurden die in Abb. 7, 8, 9 und 10 auf S. 29 - 32 gezeigten Modelle untersucht. Es ist möglich, eine kompakte Form des Cyclopeptides aufzubauen, in der jede Carbonyl- und jede Aminogruppe an einer H-Brücke beteiligt ist (Abb. 7), wobei die H-Brücken einmal in der Richtung der Peptidbindungen (CO $\longrightarrow$ NH) und ein anderes Mal in entgegengesetzter Richtung laufen können. Angesichts der aus der DRUDE'schen Gleichung sich ergebenden höheren λ_o-Konstanten für die Dimethylformamidlösungen der Peptide, könnte man ein Vorliegen der eben beschriebenen Formen in Dimethylformamid diskutieren. Das H-Brücken-lösende Agens DCE begünstigt dagegen nach DOTY und YANG (49) eine zufallsgeknäuelte, eventuell durch Salzbildung an den Säureamidgruppen und die sich dadurch ergebenden COULOMB'schen Kräfte gestreckte Form, wie sie z.B. in Abb. 8 bzw. 9 gezeigt ist.

Ein Ausscheiden des Falles 1 a und b geht aus diesen Abbildungen bereits klar hervor. Die Bedingungen c und d wurden bisher an organischen Molekülen nur in seltenen Fällen geprüft: so konnten MC CASLAND und PROSKOW (56) im Falle des meso-trans/trans-3,4,3',4'-Tetramethylspiro-(1,1')-bipyrrolidium-p-toluolsulfonat ein auf Grund seiner vierzähligen Drehspiegelachse optisch inaktives Molekül herstellen, das weder Bedingung a noch b erfüllte.

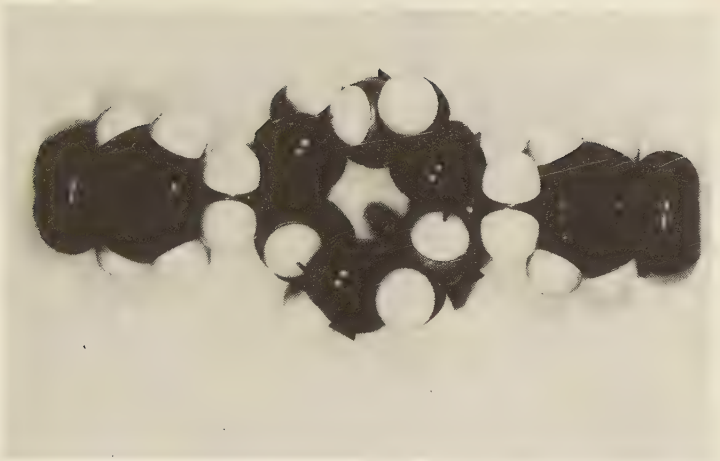

Abb. 7 Cyclo-(gly-L-nitrophe-gly)$_2$ mit innermolekular maximal abgesättigten H-Brücken

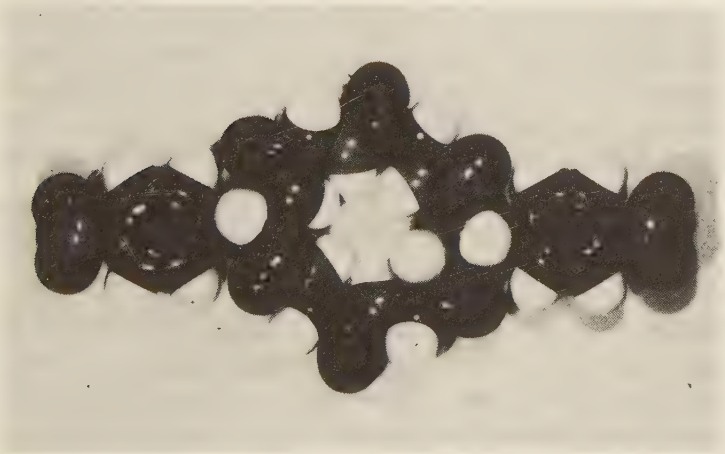

Abb. 8 Cyclo-(gly-L-nitrophe-gly)$_2$ in gestreckter Form

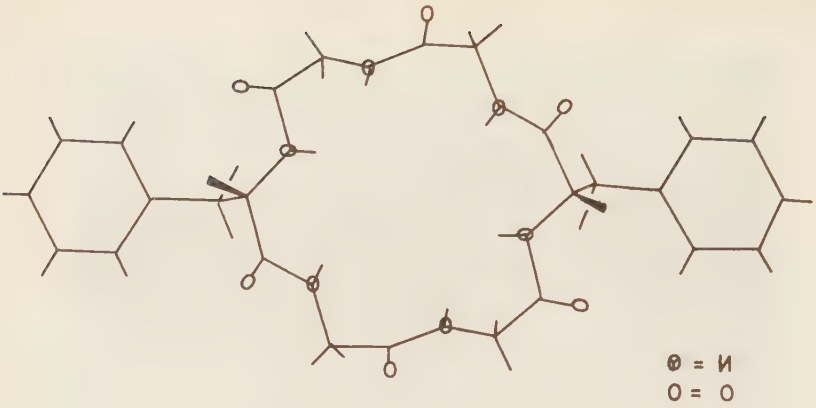

Abb. 9 Cyclo-(gly-L-phe-gly)$_2$ in der Abb. 8 entsprechenden Anordnung

Die Abb. 10 und 11 auf S. 31 u. 32 stellen ein zur Erzeugung einer drei- bzw. vierzähligen Achse verdrilltes Cyclopeptidmodell dar, wobei die Raumerfüllung der einzelnen Atome zunächst außer Acht gelassen sei. Die gestrichelt gezeichnete Drehachse verläuft durch die beiden asymmetrischen C-Atome in Richtung der Verbindungsachse $C_{asymm.}$ $-CH_2$ benzyl im Falle der drei-zähligen Achse, im Falle der vierzähligen bildet sie die Winkelhalbierende des Winkels H-$C_{asymm.}$ $-CH_2$ benzyl. Zur Ausscheidung des Falles c und d genügt es, die nächsten Nachbarn des asymmetrischen C zu betrachten und zu versuchen, die in den beiden Drehlagen gezeichneten Positionen durch Spiegelung an einer zur Drehachse senkrechten Ebene ineinander überzuführen.

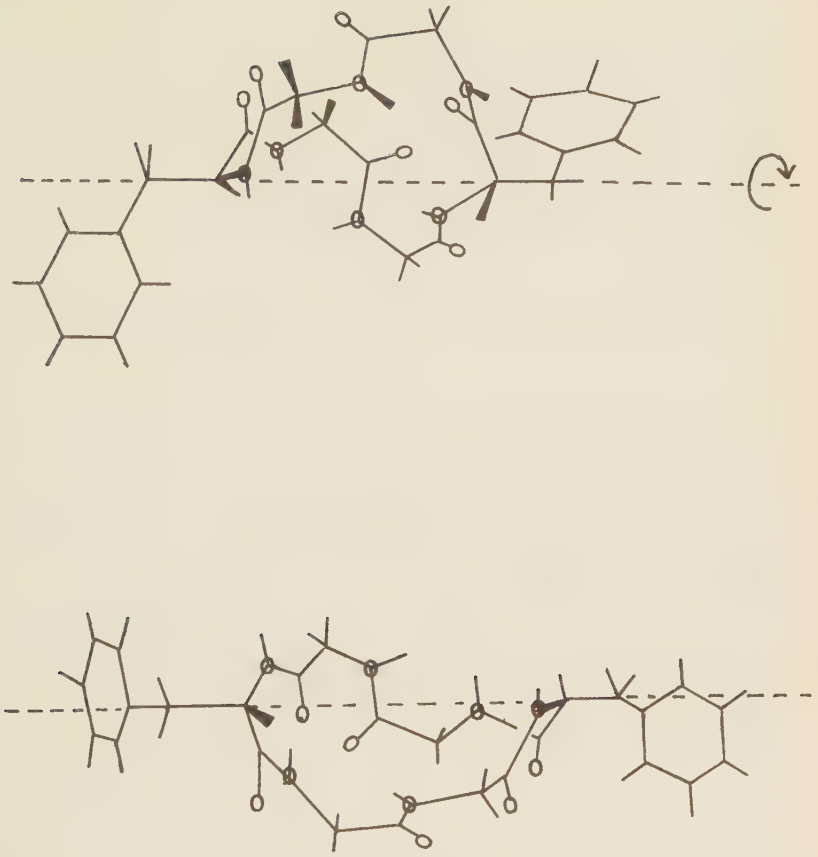

Abb. 10 Cyclo-(gly-L-phe-gly)$_2$ mit dreizähliger Achse. Das untere Bild stellt das um 120° gedrehte, obere Molekül dar.

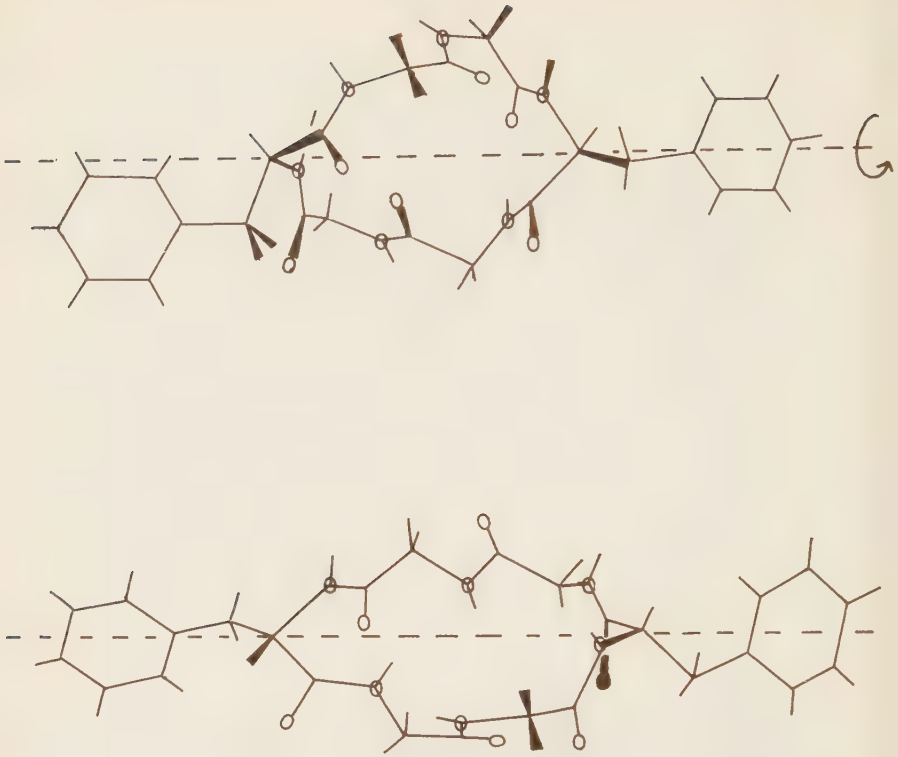

Abb. 11 Cyclo-(gly-L-phe-gly)$_2$ mit 4-zähliger Achse. Das untere Bild stellt das um 90° gedrehte obere Molekül dar.

Zu 2. Die größere Zahl der bisher untersuchten, in DCE optisch inaktiven Cyclopeptide mit Resten sowohl aliphatischer als auch aromatischer Natur, sowie das in dieser Arbeit festgestellte gleichartige Verhalten in Trifluoressigsäure schließt ein Gleichgewicht zwischen + und - drehender Form mit zufällig bei Null liegender Gesamtdrehung sehr wahrscheinlich aus.

Zu 3. Eine Molgewichtsbestimmung in Trifluoressigsäure ergab für das Cyclo-(gly-L-phe-gly)$_2$ einen dem Monomeren entsprechenden Wert.

Zu 4. Dieser Fall könnte insbesondere eintreten, wenn Absorptionsbanden von Gruppen, die die Drehung beeinflussen, durch Veränderung ihres Elektronensystems stark hypsochrom verschoben werden. Die Intensität der Absorption spielt hierbei keine Rolle, gerade die schwachen Vorbanden tragen wegen ihres großen Anisotropiefaktors besonders zur Drehung bei (36). Eine solche Veränderung könnte im hier untersuchten Falle in der Salzbildung an den Säureamidgruppen bestehen. Die beobachtete Drehung der Bis-nitro-Verbindung in DCE könnte dann an einer Beteiligung der Nitrogruppen am H-Brückensystem (vgl. S.19) oder an einem eigenen Drehbeitrag der Absorptionsbanden der Nitrogruppen liegen.

Für diesen Gesichtspunkt der Salzbildung spricht die Säurenatur der DCE und der Trifluoressigsäure. Die Tatsache, daß das Cyclo-(gly-L-tyr-gly)$_2$ (25) und das Cyclo-(gly-L-phe-gly)$_2$ (vgl. S.25) erst bei größerem DCE-Gehalt ihre Drehung herabsetzen, während beim Cyclo-(gly-L-glu-gly)$_2$ (24) bereits bei geringem DCE-Gehalt die Drehung völlig verschwindet, müßte dann mit einer Abstufung der Basizität in der Reihenfolge Cyclo-(gly-L-glu-gly)$_2$ > Dimethylformamid > (Gly-L-tyr-gly)$_2$ und (Gly-L-phe-gly)$_2$ erklärt werden.

Gegen diese Ansicht spricht der auf S. 20 erwähnte Drehbeitrag der Phenylgruppe, der durch Salzbildung an der Säureamidgruppe zwar beeinflußt, aber nicht zum Verschwinden gebracht werden kann (vgl. 36). Ferner steht dem die Tatsache entgegen, daß optisch aktive Verbindungen wie Isoamylalkohol oder Isoborneol, deren Absorptionsbanden bei ähnlich hohen oder höheren Wellenzahlen als die der protonisierten Säureamidgruppe liegen dürften, selbst im sichtbaren Gebiet (Na_D-Linie) eine erhebliche Drehung der Ebene des polarisierten Lichtes zeigen.

V. Ausblick

Zur weiteren Klärung der Verhältnisse wäre es angezeigt, die Veränderung der Drehung von Cyclopeptiden aliphatischer Aminosäuren, die außerhalb der Peptidbindung nur σ-Elektronen enthalten, durch Einflüsse, die den Zustand der Peptidbindung verändern, zu untersuchen. Ferner könnte umgekehrt die Variation der Substituenten am asymmetr. C als auch am Phenylkern, möglichst unter Verwendung von C-Phenylglycin, Aufschlüsse über den Einfluß dieser Gruppen auf die Drehung geben. Günstig wäre dabei die Herabsetzung des Einflusses der Peptidbindung durch Reduktion der Carbonylgruppe.

VI. Präparativer Teil

1. N-Cbo-gly-L-phe-OH nach SHINGTE (23)
   Ausbeute: 74 % F. 127-128°C

2. N-Cbo-gly-L-phe-gly-äthylester nach SHINGTE (23)
   Ausbeute: 85 % F. 116-118°C

3. N-Cbo-gly-L-phe-gly-OH nach SHINGTE (23)
   Ausbeute: 66 % F. 161-162°C

4. N-Cbo-gly-L-phe-gly-O-C_6H_4-NO_2 nach SHINGTE (23)
   Ausbeute: 60 % F. 164°C

5. Gly-L-phe-gly-O-C_6H_4-NO_2 nach SHINGTE (23)
   Ausbeute: 75 % F. 202°C (Zers.)

6. Cbo-gly-L-phe-gly-gly-L-phe-gly-O-C_6H_4-NO_2 nach SHINGTE (23)
   Ausbeute: 55 % F. 183°C

7. Cyclo-gly-L-phe-gly-gly-L-phe-gly nach SHINGTE (23)
   Ausbeute: 33 % $[\alpha]_D^{20} = -62°$ (c=0,5 in DMF)

8. L-p-Nitrophenylalanin nach ERLENMEYER und LIPP (58)
   Ausbeute: 70 % F. 245-6°C (Zers.)

9. N-Cbo-gly-L-nitrophe-OH
   10,5 g Cbo-gly-OH = 0,05 Mol und 7 g p-Nitrophenol = 0,05 Mol wurden in 100 ml absolutem Tetrahydrofuran gelöst und unter Eiskühlung 10,3 g = 0,05 Mol DCD in 25 ml Tetrahydrofuran hinzugegeben. Nach 12stündigem Stehen wurde der N,N'-Dicyclohexylharnstoff abfiltriert und das Filtrat mit einer Lösung von 10,5 g L-p-Nitrophenylalanin in 50 ml 1 n NaOH, die 10,5 g Natriumcarbonat enthielt, versetzt.

Nach 2 stündigem Rühren wurde mit 200 ml Wasser verdünnt, mit 2 n HCl angesäuert, vom Tetrahydrofuran im Vakuum befreit und der Rückstand in Essigester aufgenommen. Dieser wurde dreimal mit je 100 ml 5 %iger $NaHCO_3$-Lösung = 0,3 Molen extrahiert, und das Dipeptid aus dieser Lösung mit 2 n HCl unter Kühlung gefällt. Umkristallisation aus Essigester/Petroläther oder A. + W. 1:3.

Ausbeute: 14 g = 70 % d.Th.
F. 182-183°C

$[\alpha]_D^{25}$ = +36° (c = 2; Pyridin)

$C_{19}H_{19}N_3O_7$ MG 401,4

Gef.	C 57,09 %	H 4,81 %	N 10,33 %
Ber.	56,86 %	4,77 %	10,47 %

10. N-Cbo-gly-L-nitrophe-gly-äthylester

a.) Durch Zugabe von 2,7 ml Triäthylamin = 0,018 Mol zu einer Suspension von 2,5 g Gly-äthylester-hydrochlorid = 0,018 Mol in 150 ml Methylenchlorid wurde unter stetem Schütteln und unter Eiskühlung der freie Glycinester hergestellt und nach 30 Minuten mit 6 g = 0,015 Mol N-Cbo-gly-L-phe-OH sowie nach weiteren 10 Minuten mit einer Lösung von 3,1 g = 0,015 Mol DCD in 20 ml Methylenchlorid versetzt. Nach 1 stündigem Stehen im Eisbad und 6 stündigem Stehen bei Raumtemperatur wurde filtriert, und das Filtrat mit 2 n HCl, gesätt. $NaHCO_3$-Lösung und Wasser gewaschen, mit Na_2SO_4 getrocknet, im Vakuum eingeengt und aus Essigester/Petroläther umkristallisiert.

Ausbeute: 6 g = 81 % d.Th.

b.) 4 g = 0,01 Mol N-Cbo-gly-L-nitrophe-OH wurden bei 0°C mit 3,03 g = 4,13 ml = 0,03 Mol Triäthylamin übergossen

und mit 2,27 g = 0,03 Mol Chloracetonitril versetzt, wobei durch Kühlung die Temperatur unter 20°C gehalten wurde. Nach 12 stündigem Stehen wurde mit 100 ml Essigester und 20 ml Wasser versetzt. Die Essigesterphase wurde zweimal mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet, der Essigester im Vakuum abdestilliert, und das zurückbleibende Oel mit Aether/Petroläther verrieben.

Der so erhaltene N-Cbo-glycyl-L-nitrophenyl-cyanmethylester wurde mit 1,7 g = 1,2 Mole Glycinäthylesterhydrochlorid und 1,21 g = 1,2 Mol Triäthylamin, sowie 8 Tropfen Eisessig und 30 ml trockenem Tetrahydrofuran 48 Stunden bei Raumtemperatur stehen gelassen. Dann wurde das Tetrahydrofuran im Vakuum abdestilliert und der Rückstand mit Essigester aufgenommen, der mit gesätt. NaCl-Lösung zweimal ausgezogen, über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum abdestilliert wurde. Nach Umkristallisation des Rückstandes aus Essigester/Petroläther stimmten die physikalischen Eigenschaften der erhaltenen, zuckerähnlichen Kristalle mit denen der nach a.) erhaltenen überein.

Ausbeute: 2,5 g = 51 % d.Th.

F. 129-130°C

$[\alpha]_D^{20}$ = +4° (c = 2; Eisessig)

$C_{23}H_{26}N_4O_8$ MG 486,5

Gef.	C 56,84 %	H 5,24 %	N 11,76 %
Ber.	56,79 %	5,39 %	11,52 %

11. N-Cbo-gly-L-nitrophe-gly-OH

10,5 g = 0,0216 Mol N-Cbo-gly-L-nitrophe-gly-äthylester wurden in 185 ml Methanol gelöst und mit 32,4 ml 1 n NaOH

= 0,0324 Mole und 1,5 Stunden bei Raumtemperatur stehengelassen. Dann wurde mit Wasser verdünnt, mit 2 n HCl angesäuert und das Methanol im Vakuum abdestilliert. Der Rückstand wurde in 500 ml Essigester aufgenommen, und diese Lösung 3 mal mit je 200 ml gesätt. $NaHCO_3$-Lösung extrahiert. Das aus dieser Lösung mit 2 n HCl gefällte Tripeptid wurde nach Trocknen über KOH aus Essigester/Aether umkristallisiert.

Ausbeute: 8,5 g = 86 % d.Th.

F. 177-178°C

$[\alpha]_D^{20}$ = -9° (c = 2; Pyridin)

$C_{21}H_{22}N_4O_8$ MG 458,5

Gef.	C 55,13 %	H 5,04 %	N 12,35 %
Ber.	54,99 %	4,84 %	12,22 %

12. N-Cbo-gly-L-nitrophe-gly-O-C_6H_4-NO_2

3,44 g = 0,0075 Mol N-Cbo-gly-L-nitrophe-gly-OH wurden in 75 ml absolutem Tetrahydrofuran gelöst und nacheinander 1,05 g = 0,0075 Mol p-Nitrophenol und 1,7 g = 0,0075 Mol DCD in je 12,5 ml Tetrahydrofuran unter Eiskühlung hinzugegeben. Nach 6 stündigem Stehen wurde abfiltriert, und das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert. Der kristalline Rückstand wurde mit Aether verrieben, bis im Aether kein p-Nitrophenol mehr nachweisbar war. Umkristallisation aus Methanol/Wasser.

Ausbeute: 3 g = 69 % d.Th.

F. 147-149°C

$[\alpha]_D^{20}$ = -11° (c = 2; Dioxan)

$C_{27}H_{25}N_5O_{10}$ MG 579,5

Gef.	C 56,28 %	H 4,46 %	N 12,33 %
Ber.	55,95 %	4,35 %	12,08 %

13. Gly-L-nitrophe-gly-O-C_6H_4-NO_2-hydrobromid

2,1 g = 0,0035 Mol N-Cbo-gly-L-nitrophe-gly-O-C_6H_4-NO_2 wurden im Vakuum bei 60°C getrocknet und mit 14 ml einer 1 n HBr-Lösung in abs. Eisessig übergossen. Nach 2,5 stündigem Stehen unter Feuchtigkeitsausschluß wurde bei max. 40°C im Vakuum eingeengt, und der Rückstand mit absolutem Aether verrieben, bis der Geruch nach Benzylbromid verschwunden war. Umkristallisation aus Methanol-Aceton (1:1) + Aether.

Ausbeute: 1,5 g = 81 % d.Th.

F. 178-180°C

$C_{19}H_{20}BrN_5O_8$ MG 526,3

Gef.	C 43,47 %	H 3,95 %	N 13,18 %
Ber.	43,36 %	3,83 %	13,31 %

14. N-Cbo-gly-L-nitrophe-gly-gly-L-nitrophe-gly-O-C_6H_4-NO_2

2,29 g = 0,005 Mol N-Cbo-gly-L-nitrophe-gly-OH, gelöst in 100 ml absolutem Tetrahydrofuran, wurden bei -15°C mit 0,7 ml = 0,005 Mol Triäthylamin und 0,475 ml = 0,005 Mol Chlorameisensäureäthylester versetzt. Nach 30 minütigem Rühren wurden 0,7 ml weiteres Triäthylamin und sofort danach 2,63 g=0,005 Mol Gly-L-nitrophe-gly-O-C_6H_4-NO_2-hydrobromid, in 15 ml Dimethylformamid gelöst, hinzugegeben. Nach 2 stündigem Rühren, zunächst unterhalb 0°, dann bei Raumtemperatur, wurden 250 ml Wasser zugesetzt, und das Tetrahydrofuran im Vakuum abdestilliert. Der abfiltrierte

Rückstand wurde aus wenig Dimethylformamid und abs. Aether umkristallisiert.

Ausbeute: 2,8 g = 63 % d.Th.

F. (zers.) 190°C

$[\alpha]_D^{20}$ = -20° (c = 1; Dimethylformamid)

$C_{40}H_{39}N_9O_{15}$ MG 885,8

Gef.	C 53,9 %	H 4,67 %	N 14,06 %
Ber.	54,24 %	4,44 %	14,24 %

15. N-Cbo-gly-L-nitrophe-gly-gly-L-phe-gly-O-C_6H_4-NO_2

4,58 g = 0,01 Mol N-Cbo-gly-L-nitrophe-gly-OH in 200 ml Tetrahydrofuran wurden wie vorstehend beschrieben mit 1,4 ml = 0,01 Mol Triäthylamin und 0,95 ml = 0,01 Mol Chlorameisensäureäthylester, sowie 4,81 g = 0,01 Mol Gly-L-phe-gly-O-C_6H_4-NO_2-hydrobromid umgesetzt. Umkristallisation aus Dimethylformamid/Aether.

Ausbeute: 4 g = 47,6 % d.Th.

F. 210-212°C

$[\alpha]_D^{20}$ = -20° (c = 1; DMF)

$C_{40}H_{40}N_8O_{13}$ MG 840,8

Gef.	C 57,10 %	H 5,13 %	N 12,96 %
Ber.	57,14 %	4,79 %	13,33 %

16. Cyclo-gly-L-phe-gly-gly-L-nitrophe-gly (Mono-nitro-Verb.)

670 mg = 0,8 mMol des vorstehenden Hexapeptidnitrophenylesters wurden mit 3 ml 3 n HBr in Eisessig und mit 3 ml abs. Eisessig übergossen und 1 Stunde stehen gelassen. Dann

wurde mit abs. Aether gefällt und verrieben, bis der Benzylbromid-Geruch nicht mehr wahrnehmbar war. Nach 1 stündigem Trocknen im Vakuum bei 60°C wird das so erhaltene Hydrobromid in 7 ml Dimethylformamid und 3 Tropfen Eisessig gelöst, und diese Lösung innerhalb von 6 Stunden in 50 ml absolutes Pyridin bei 60°C unter Rühren eingetropft. Nach Abdestillation des Lösungsmittels im Vakuum wurde der ölige Rückstand mit Essigester und Aether verrieben und aus Methanol + W. (9:1) umkristallisiert.

Ausbeute: 80 mg = 17 % d.Th.

F. 334°C

$[\alpha]_{578}^{20}$ = -89° (c = 0,5; DMF)

$C_{26}H_{29}N_7O_8 \cdot H_2O$ MG 585,6

Gef.	C 53,8 %	H 5,1 %	N 16,9 %
Ber.	53,5 %	5,3 %	16,8 %

17. Cyclo-(gly-L-nitrophe-gly)$_2$ (Bis-nitro-Verb.)

670 mg = 0,75 mMol N-Cbo-gly-L-nitrophe-gly-gly-L-nitrophe-gly-O-$C_6H_4NO_2$ wurden wie vorstehend beschrieben mit 3 ml 3 n HBr in Eisessig und 3 ml Eisessig zur Reaktion gebracht und das erhaltene Hydrobromid in gleicher Weise cyclisiert. Umkristallisation aus Eisessig.

Ausbeute: 85 mg = 18 % d.Th.

F. nicht unter 360°C

$[\alpha]_{578}^{20}$ = -150° . (c = 0,12; DMF)

$C_{26}H_{28}N_8O_{10} \cdot H_2O$ MG 630,5

Gef.	C 49,3 %	H 4,4 %	N 17,64 %
Ber.	49,53 %	4,78 %	17,77 %

VII. Meßbedingungen

Die IR-Spektren der in KBr-Preßlingen gelösten Substanzen wurden in einem IR-Spektrographen der Firma E. LEITZ aufgenommen (2,52 mg Mono-nitro-Verb. + 672,6 mg KBr und 3,23 mg Bis-nitro-Verb. + 712,4 mg KBr).

Die Aufnahme der UV-Absorptionsspektren erfolgte mit einem Beckman-Spektrophotometer DK_2. Durch Einwiegen der Substanzen in Dimethylformamid wurden hierzu 10^{-3} m Lösungen hergestellt, die mit Dimethylformamid bis zu der jeweils angegebenen Konzentration weiter verdünnt wurden. Die 10^{-5} m Lösung der Bis-nitro-Verbindung in Methanol + Wasser (4:1) sowie die $5 \cdot 10^{-5}$ m Lösung der Mono-nitro-Verbindung wurden durch Verdünnen einer 10^{-4} m Lösung hergestellt.

Die Drehung wurde bei 365, 405, 436, 546 und 578 mμ mit einem Carl-Zeiß-Polarimeter (Nr. 367721, Hg-Lampe als Lichtquelle)+) gemessen (Ablesegenauigkeit ± 0,005° entsprechend ± 0,5 - 1° Abweichung der spezifischen Drehung, je nach Einwaage). Bei 521, 550, 589 und 629 mμ wurde ein Polarimeter der Firma SCHMIDT-HAENSCH (Nr. 12816 mit Wolframfadenlampe und Monochromator) mit einer Ablesegenauigkeit von ± 0,01° (entsprechend ± 1-2° Abweichung der spezifischen Drehung, je nach Einwaage) benutzt.

Die angegebenen Schmelzpunkte sind sämtlich unkorrigiert.

+) Herr Professor Dr. F. BOHLMANN ermöglichte entgegenkommenderweise die Benutzung dieses an der Technischen Universität Berlin vorhandenen Gerätes, wofür ich ihm auch an dieser Stelle danken möchte.

VIII. Zusammenfassung

Es wurden die Synthese der aus Glycin und der optisch aktiven, unnatürlichen Aminosäure L-p-Nitrophenylalanin bestehenden cyclischen Peptide Cyclo-gly-L-nitrophe-gly-gly-L-phe-gly und Cyclo-(gly-L-nitrophe-gly)$_2$ beschrieben und ihr Infrarot- und UV-Absorptionsspektrum angegeben. Die Rotationsdispersion dieser Cyclopeptide sowie des nach SHINGTE (23) hergestellten Cyclo-(gly-L-phe-gly)$_2$ wurde von 365-600 mμ in verschiedenen Lösungsmitteln bestimmt.

Dabei konnte die von SHINGTE im Bereich von 500-630 mμ beobachtete optische Inaktivität des letztgenannten Cyclopeptides in Dichloressigsäure bis 365 mμ bestätigt und ein gleiches Verhalten in Trifluoressigsäure festgestellt werden. Das zweifach nitrierte Cyclopeptid zeigte in diesen Lösungsmitteln eine nur erniedrigte spezifische Drehung. Das Vorliegen einer aus einem verdrillten Molekül mit 4- oder 3 (bzw. 6)-zähligen Drehspiegelachse oder aus mehreren aggregierten Molekülen bestehenden, symmetrischen Form konnte für diese Lösungen ausgeschlossen werden.

Die DRUDE'sche Rotationsdispersionskonstante λ_o wurde für die Dimethylformamidlösungen der Bis-nitro-Verbindung zu 241 mμ und für die der Mono-nitro-Verbindung zu 260 mμ bestimmt.

IX. Literaturverzeichnis

1. R. SCHWYZER, B. ISELIN, W. RITTEL, P. SIEBER, Helv.chim.Acta 39, 872 -83 (1956)

2. G. SCHRAMM, G. THUMM, Z.Naturforsch. 3b, 218 -9 (1948)

3. E. BRAND, J.T. EDSALL, Annu.Rev.Biochem. 16, 224 (1947)

4. H. BROCKMANN, H. TUMMES, F.-A. v.METZSCH, Naturwissenschaften 41, 37 -8 (1954)

5. R.A. BOISSONNAS, I. SCHUMANN, Helv.chim. Acta, 35,2229 -35 (1952)

6. M. WINITZ, J.S. FRUTON, J.Amer.Chem.Soc. 75,3041 (1953)

7. J.C. SHEEHAN, M. GOODMAN, W.L. RICHARDSON, J.Amer.chem.Soc. 77,6391 (1955)

   J.C. SHEEHAN, W.L. RICHARDSON, J.Amer. chem.Soc. 76,6329 -30 (1954)

8. D.G.H. BALLARD, C.H. BAMFORD, F.J. WEYMOUTH, Nature (London) 174, 173 -5 (1954)

   C.H. BAMFORD, F.J. WEYMOUTH, J.Amer.chem. Soc. 77,6368 -9 (1955)

   D.G.H. BALLARD, C.H. BAMFORD, F.J. WEYMOUTH, Proc.Roy.Soc. (London) Ser. A 227, 155 -83 (1955)

9. L. BILEK, J. DERKOSCH, H. MICHL, F. WESSELY, Mh.Chem. 84, 717 -40 (1953)

10. G.W. KENNER, J.M. TURNER, Chem. and Ind. 602 -3 (1955)

11. R. SCHWYZER, P. SIEBER, Angew.Chem. 68, 518 (1956)

R. SCHWYZER, P. SIEBER, Helv.chim.Acta 40, 624 -39 (1957)

12. R. SCHWYZER, P. SIEBER, Helv.chim.Acta 41,1582 -7 (1958)

13. R. SCHWYZER, B. GORUP, Helv.chim.Acta 41,2199 - 2205 (1958)

14. K. HEYNS, W. WALTER, F. MUELLER, Angew.Chem. 68, 617 (1956)

15. T. WIELAND, K.W. OHLY, Liebigs Ann.Chem. 605, 179 -182 (1957)

16. T. WIELAND, B. HEINKE, Liebigs Ann.Chem. 615, 184 -202 (1958)

17. R. SCHWYZER, P. SIEBER, B. GORUP, Chimia (Zürich) 12, 90 -1 (1958)

18. R. SCHWYZER, P. SIEBER, Helv.chim.Acta 41,2190 -99 (1958)

19. W. LAUTSCH, H. RAUHUT, W. GRIMM, R. SHINGTE, D. HEINICKE, Chimia (Zürich) 13, 146 -155 (1959)

20. M. ROTHE, I. ROTHE, H. BRUENIG, K.-O. SCHWENKE, Angew.Chem. 71, 700 -1 (1959)

21. M. ROTHE, H. BRUENIG, G. EPPERT, J.prakt. Chem. 8, 321 (4), -32 (1959)

22. M. ROTHE, Acta chim.Acad.Sci.hung. 18, 449 -55 (1959)

23. R. SHINGTE, Dissertation F.U. Berlin 1960

24. D. HEINICKE, Dissertation F.U. Berlin 1960

25. H. RAUHUT, Dissertation F.U. Berlin 1960

26. R. SCHWYZER, B. GORUP, Angew.Chem. 72, 270 (1960)

27. J.C. SHEEHAN, K.R. HENERY-LOGAN, J.Amer. chem.Soc. 79,1262 (1957)

28. P. SCHLACK, K. KUNZ, Chem.Textilfasern, Filme und Folien, hrsg. v. R. PUMMERER, Verlag Enke, Stuttgart 629 (1952)

P.H. HERMANS, Recueil Trav.chim.Pays-Bas 72, 798 (1953)

P.H. HERMANS, Nature (London) 177, 126-7 (1956)

P.H. HERMANS, Nature (London) 177, 127-8 (1956)

C.J. BROWN, A. HILL, P.V. YOULE, Nature (London) 177, 128 (1956)

H. ZAHN u. Mitarb., Angew.Chem. 68, 229-238 (1956)

29. H. ZAHN, E. REXROTH, Z.analyt.Chem. 148, 181-6 (1955/56)

E. REXROTH, Dissertation Univ.Heidelberg 1955

30. H. ZAHN, H. SPOOR, Chem.Ber. 89,1296-1302 (1956)

31. I. ROTHE, M. ROTHE, Chem.Ber. 88, 284-9 (1955)

32. M. ROTHE, F.W. KUNITZ, Liebigs Ann.Chem. 609, 88-102 (1957)

M. ROTHE, F.W. KUNITZ, Angew.Chem. 68, 414 (1956)

33. H. ZAHN, Angew.Chem. 69, 239 (1957)

H. ZAHN, J. KUNDE, Angew.Chem. 69, 713 (1957)

34. M. ROTHE, J.polymer.Sci. 30, 227-36 (1958)

35. H.-G. LEHMANN, Dissertation F.U. Berlin 1960

36. W. KUHN in K. FREUDENBERG, Stereochemie Verlag Franz Deuticke, Leipzig-Wien 1933

37. E. SCHMIDT, H. FISCHER, Ber.dtsch.chem. Ges. 53,1529-37 (1920)

E. SCHMIDT, H. FISCHER, Ber.dtsch.chem. Ges. 53,1537-44 (1920)

E. SCHMIDT, H. FISCHER, R. SCHUMACHER, Ber.dtsch.chem.Ges. 54,1414-19 (1921)

A. WORMALL, J.exp.Medicine 51, 295 -317 (1930)

L. EHRENBERG, I. FISCHER, N. LOEFGREN, Nature (London) 157, 730 -1 (1946)

38. R. SCHWYZER, E. SURBECK-WEGMANN, Helv.chim.Acta 43,1073 -76 (1960)

39. G. W. ANDERSON, F.M. CALLAHAN, J.Amer. chem.Soc. 80,2902 -3 (1958)

40. R.A. BOISSONNAS, Helv.chim.Acta 34, 874 (1951)

41. K. ZIEGLER in Houben-Weyl-Müller, Methoden der organischen Chemie, Bd IV/2, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 733

42. Wie vorst. Band III/1 355

43. L.J. BELLAMY, Ultrarotspektrum und chemische Konstitution, Darmstadt 1955

44. A. WEISSBERGER, Physical Methods of organic Chemistry, Vol. IX, Kap.4, R.n.Jones, Camille Sandorfy Intersc.Publ. Inc. New York, London 1956

45. H.A. STAAB, Einführung in die theoret.organische Chemie, Verlag Chemie, Weinheim/ Bergstr. 1959

46. H. LIPPERT in D. HADŽ, H.W. THOMPSON, Hydrogen Bonding, Pergamon Press, New York, London, Paris 1959

47. G.C. PIMENTEL, A.L. McCLELLAN, The Hydrogen Bond, W.H. Freeman α Co. San Francisco und London 1960

48. H.A. HARBURY, K.F. LaNOUE, P.A. LOACH, R.F. AMICK, Proc.nat.Acad.Sci. USA 45,1708 -17 (1959)

49. J.T. YANG, P. DOTY, J.Amer.chem.Soc. 79, 761 -75 (1957)

50. W. MOFFITT, J.T. YANG, Proc.nat.Acad.Sci. USA 42, 596 -603 (1956)

51. O. KRATKY, E. SCHAUENSTEIN, Z.Naturforsch. 5b, 281 -7 (1950)

52. E. SCHAUENSTEIN, Mh.Chem. 80, 820 -42 (1949)

53. W. MOFFITT, Proc.nat.Acad.Sci.USA 42, 736 -46 (1956)

54. D.D. FITTS, J.G. KIRKWOOD, Proc.nat.Acad. Sci. USA 42, 33 -36 (1956)

J.Amer.chem.Soc. 78,2650 -1 (1956)

55. W. LAUTSCH, Kolloid-Z. 166, 55 -57 (1959)

56. G.E. McCASLAND, S. PROSKOW, J.Amer. chem.Soc. 78,5646 -52 (1956)

57. H. ZAHN, H. SPOOR, Chem.Ber. 92,1375 -80 (1959)

58. ERLENMEYER sen., Lipp Liebigs Ann.Chem. 219, 213

Die vorliegende Arbeit wurde im Institut für Organische Chemie der Freien Universität Berlin unter der Leitung von Herrn Professor Dr. W. LAUTSCH ausgeführt.

Für die Ueberlassung des Themas und die großzügige Bereitstellung von Hilfsmitteln bin ich Herrn Professor Dr.W. LAUTSCH zu Dank verpflichtet.

Herrn Professor Dr.W.BROSER möchte ich für sein stetes Interesse an dieser Arbeit danken.

L e b e n s l a u f

Am 23. Dezember 1934 wurde ich als zweite Tochter des Bäckermeisters Johann Koninski und seiner Ehefrau Auguste, geb. Böttcher, in Insterburg/Ostpreußen geboren.

1941 wurde ich Schülerin der Volksschule in Insterburg. Nach unserer Flucht aus Ostpreußen nach Berlin im Oktober 1944 besuchte ich die Käthe Kollwitz-Oberschule und die Oberschule für Mädchen des Bezirks Mitte. 1950 wechselte ich an die Sophie-Scholl-Schule in Schöneberg über. Am 2. Februar 1954 habe ich dort die Reifeprüfung abgelegt.

Im Sommersemester 1954 begann ich an der Freien Universität Berlin das Studium der Chemie. Nach Ablegung des Diplomvorexamens im SS 1958 führte ich im SS 1959 und WS 1959/60 meine Diplomarbeit bei Herrn Professor Dr.W.Broser im Institut für Organische Chemie der Freien Universität Berlin durch. Im Frühjahr 1960 bestand ich die Diplomprüfung mit "sehr gut".

Seit dem 10. Januar 1959 bin ich mit dem Dipl.-Chem. Wolfgang Schreiber verheiratet.

Seit dem 1. 10. 1960 bin ich wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Organische Chemie der Freien Universität Berlin.